

AKTIVITAS HIDROLISIS ENZIM LIPASE DARI KENTOS KELAPA TERHADAP MINYAK KELAPA

Hidrolysis Activity of Lipase Enzyme from Coconut Houstorium for Coconut Oil

Mohammad Su'i¹, Harijono², Yunianta², Aulani'am³

¹Fakultas Pertanian, Universitas Widyagama Malang, Jl. Borobudur No. 25, Malang, ²Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang, Jl. Veteran, Malang 65145. ³Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang, Jl. Veteran, Malang 65145
Email: sui_uwg@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini mempelajari kondisi hidrolisis minyak kelapa yang optimum menggunakan enzim lipase dari kentos kelapa. Kondisi hidrolisis yang dipelajari meliputi konsentrasi substrat optimum, perbandingan enzim : substrat dan lama hidrolisis yang optimum serta pengaruh pengadukan selama hidrolisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, hidrolisis minyak kelapa menggunakan enzim lipase kentos kelapa menghasilkan asam lemak bebas paling banyak pada konsentrasi substrat (minyak kelapa) 10 %, perbandingan enzim : substrat yaitu 3 : 10 (v/v), lama hidrolisis 60 menit dan dilakukan pengadukan selama hidrolisis.

Kata kunci: Lipase, kentos kelapa, minyak kelapa, hidrolisis

ABSTRACT

This research was aimed to study hydrolysis conditions of houstorium lipases enzyme using coconut oil as substrate. Hydrolysis conditions studied were substrate (coconut oil) concentration, enzyme substrate ratio, duration of hydrolysis and effect of stirring to hydrolysis. The results show that lipase of coconut houstorium may be optimally used at a coconut oil concentration of 10 %, enzyme to substrate ratio of 3 : 10 (v/v) and hydrolysis for 60 minutes with stirring.

Keyword: Lipase, houstorium, coconut oil, hydrolysis

PENDAHULUAN

Enzim lipase mampu menghidrolisis lemak atau minyak menghasilkan asam lemak bebas (Sana dkk., 2004). Lemak dalam biji atau buah akan dihidrolisis secara enzimatis dengan bantuan enzim lipase untuk memecahkannya menjadi asam lemak. Asam lemak ini kemudian memasuki siklus katabolisme trigliserida dan glukoneogenesis untuk membentuk suatu heksosa yang akan digunakan dalam pembentukan selulosa sebagai penyusun tunas kelapa (Bewley dan Black, 1985).

Enzim lipase merupakan enzim yang menghidrolisis ikatan ester terutama lemak netral seperti trigliserida (Sana dkk., 2004). Menurut Pahoja dkk. (2001), enzim lipase meng-

hidrolisis minyak (trigliserida), digliserida dan mono gliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Enzim lipase dari kelapa sawit mampu menghidrolisis minyak dalam biji sawit (*endogeneus*). Dalam waktu hidrolisis 1 jam, hanya 0,8% total minyak yang dihidrolisis menjadi asam lemak bebas. (Oo dan Stumpf, 1983).

Apabila minyak kelapa dihidrolisis, maka akan dihasilkan asam lemak bebas penyusunnya. Asam lemak dalam minyak kelapa terdiri atas asam laurat, asam miristat, asam kaprilat dan asam kaprat. Asam lemak ini termasuk asam lemak rantai sedang atau *Medium Chain Fatty Acid* (MCFA) yang dapat menurunkan kadar kolesterol darah (Nicole dkk., 2001). Disamping itu, asam laurat, asam kaprat, asam palmitat, asam miristat, asam linoleat, asam linolenat yang di-

peroleh dari hidrolisis minyak kelapa memiliki kemampuan antibakteri. Asam lemak ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya *Pneumococci*, *streptococcus*, *Micrococci*, *Candida*, *S. aureus*, *S. epidermis* (Kabara dkk., 1972) dan menghambat perkembangan virus (Harnung dkk., 1994).

Hasil penelitian Sui dan Chandra (2007) menyatakan bahwa, kentos dari buah kelapa memiliki aktivitas lipase yang cukup tinggi. Kentos yang diperoleh dari buah kelapa yang ditunaskan selama 30 hari memiliki aktivitas spesifik lipase sebesar 0,0581 unit/mg protein.

Apabila enzim lipase dari kentos kelapa ini digunakan untuk menghidrolisis minyak kelapa, maka akan diperoleh asam lemak bebas yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan kondisi hidrolisis yang tepat agar diperoleh asam lemak bebas yang maksimum.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain, buah kelapa *varietas dalam* yang diperoleh dari Lawang, Kabupaten Malang, *virgin coconut oil* (VCO) merk *Bagoes*, aquades, air destilasi bebas ion. Bahan kimia antara lain gum arab, dietil eter, petroleum eter, Na_2CO_3 , etanol 95 %, NaOH, indikator pp, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , bovin serum albumin (BSA) yang diperoleh dari Merck.

Ekstraksi Enzim Lipase

Enzim lipase yang digunakan adalah ekstrak kasar yang diperoleh dari kentos kelapa yang ditunaskan selama 30 hari. Pertunasan kelapa menggunakan metode Oo dan Stumpf (1983) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan pada tahap penyimpanan kelapa. Oo and Stumpf (1983) menyimpan kelapa yang ditunaskan di dalam tanah. Dalam penelitian ini, kelapa disimpan dalam lemari penyimpanan yang gelap pada suhu 20 °C dengan kelembababan antara 80 - 90 %. Isolasi lipase dengan metode Sana dkk. (2004) yang dimodifikasi. Pada metode Sana dkk. (2004), sampel diberi dengan air destilat bebas ion. Pada penelitian ini, air destilat diganti dengan larutan buffer fosfat pH 7 untuk mencegah perubahan pH selama isolasi enzim.

Hidrolisis Minyak Kelapa

Kemampuan hidrolisis enzim lipase kentos terhadap minyak kelapa menggunakan metode Rashid dkk. (2001). Kondisi hidrolisis enzim lipase yang optimum dipelajari dengan memvariasi: (a) Kadar Substrat yaitu 2, 6, 10, 14 dan 18 %, (b) Perbandingan enzim dan substrat meliputi 1:10; 2:10;

3:10; 4:10 dan 5:10 (v/v), (c) Pengaruh pengadukan selama hidrolisis (tanpa diaduk dan diaduk dengan *stirrer* 300 rpm) dan (d) Lama hidrolisis (0, 30, 60, 90 dan 120 menit).

Enzim lipase yang digunakan adalah hasil isolasi dari kentos kelapa yang ditunaskan selama 30 hari dengan aktivitas 0,402 unit/ml ekstrak enzim atau 0,058 unit/mg protein. Aktivitas enzim lipase diukur dengan menggunakan para nitro phenil laurat (PNPL) sebagai substrat. Para nitrofenol yang dilebebaskan dari hidrolisa PNPL oleh lipase diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm (Bhardwaj dkk., 2001).

Reaksi hidrolisis dilakukan dengan cara mencampurkan 10 ml substrat (minyak kelapa dalam bentuk emulsi dengan air ditambahkan *gum arab* sebagai emulsifier) konsentrasi 10 % dengan enzim 3 ml (kecuali untuk penentuan perbandingan enzim:substrat) yang diatur pada pH 7.

Untuk penentuan perbandingan enzim:substrat, konsentrasi substrat diatur sehingga konsentrasi akhir setelah ditambah enzim dengan perbandingan yang berbeda (1:10 ; 2:10; 3:10 ; 4:10 dan 5:10 v/v) konsentrasi substrat menjadi 10 %.

Selanjutnya diinkubasi pada suhu 60 °C selama 60 menit. Penentuan pH 7, suhu 60 °C dan lama inkubasi 60 menit berdasarkan penelitian terdahulu tentang karakterisasi enzim lipase kentos kelapa (Sui, 2007). Jumlah asam lemak bebas atau *Free Fatty Acid* (FFA) yang dihasilkan ditentukan dengan cara titrasi dengan larutan NaOH 0,005 N menggunakan metode Rashid dkk. (2001).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi Substrat

Dalam penelitian ini diuji beberapa konsentrasi substrat yang berbeda (2, 6, 10, 14 dan 18 %) terhadap asam lemak bebas yang dihasilkan (Tabel 1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi substrat sampai 10 % dapat meningkatkan produksi asam lemak bebas (FFA). Tetapi jika konsentrasi substrat ditingkatkan lagi akan terjadi penurunan produksi FFA.

Tabel 1. Produksi asam lemak bebas (FFA) pada konsentrasi substrat yang berbeda

Konsentrasi Substrat (%)	FFA ($\mu\text{mol/ml/jam}$)
2 %	0,64
6 %	1,42
10 %	2,19
14 %	1,31
18 %	0,64

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Pahoja dkk. (2001) melaporkan bahwa, peningkatan konsentrasi substrat hingga 10 % meningkatkan aktivitas lipase *Caesalpinia bonducella* L. Jika konsentrasi substrat ditingkatkan lagi di atas 10 % maka akan terjadi penurunan aktivitas enzim lipase. **Penurunan aktivitas enzim juga akan menurunkan produk yang dihasilkan** (dalam hal penelitian ini adalah FFA). Fenomena ini memang kurang sesuai dengan kinetika enzim yang menyatakan bahwa, aktivitas enzim akan meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi substrat. Peningkatan substrat hingga batas konsentrasi tertentu tidak bisa meningkatkan aktivitas enzim sehingga aktivitasnya mendekati konstan (tidak menurunkan aktivitas enzim). Hal ini diduga karena terjadi penghambatan aktivitas enzim lipase pada kondisi substrat terlalu tinggi. Pada saat konsentrasi substrat sudah optimum, penambahan sejumlah substrat justru akan menghambat interaksi enzim dengan substrat sehingga aktivitas enzim menurun.

Perbandingan Enzim : Substrat

Perbandingan enzim : substrat yang dipelajari dalam penelitian ini 1:10 ; 2:10 ; 3:10 ; 4:10 dan 5:10 (v/v). Dari perbandingan enzim : substrat yang berbeda, selanjutnya diukur asam lemak bebas yang dihasilkan seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Produksi asam lemak bebas (FFA) pada perbandingan enzim : substrat yang berbeda

Enzim : Substrat (v/v)	FFA ($\mu\text{mol/jam}$)
1 : 10	3,33
2 : 10	5,00
3 : 10	6,87
4 : 10	5,21
5 : 10	1,67

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan enzim hingga 3 : 10 dapat meningkatkan produksi FFA. Peningkatan enzim setelah 3 : 10 justru menurunkan produksi FFA.

Hasil penelitian ini sependapat dengan penelitian Pahoja dkk. (2001) yang menyebutkan bahwa, penambahan enzim terhadap substrat hingga konsentrasi enzim tertentu (12 %) akan meningkatkan aktivitas lipase *Caesalpinia bonducella* L. Jika jumlah enzim ditingkatkan lagi, aktivitas lipase akan menurun yang ditunjukkan oleh jumlah produk hidrolisis yang lebih rendah.

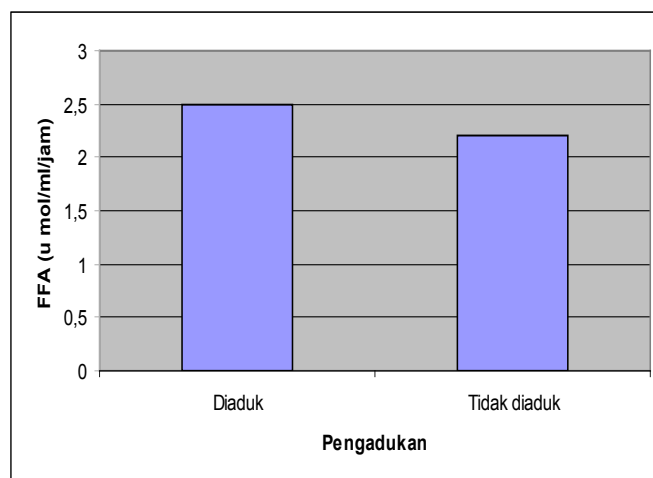
Penurunan produk hidrolisis berupa FFA diduga karena perbandingan enzim : substrat pada rasio 3 : 10 (v/v) aktivitas hidrolisis mencapai maksimal. Jika enzim ditingkatkan lagi,

reaksi akan berlangsung lebih cepat, sehingga asam lemak bebas mencapai maksimal sebelum 60 menit. Jika hidrolisis dilanjutkan hingga 60 menit, diduga reaksi akan berlanjut dengan menguraikan asam lemak bebas menjadi senyawa lain.

Menurut Bewley dan Black (1985), lemak dalam biji atau buah akan dihidrolisis secara enzimatis dengan bantuan enzim lipase untuk memecahkannya menjadi asam lemak bebas. Asam lemak ini selanjutnya akan memasuki siklus katabolisme trigliserida dan glukoneogenesis untuk membentuk suatu heksosa yang akan digunakan dalam pembentukan selulosa sebagai penyusun tunas kelapa.

Pengaruh Pengadukan Selama Hidrolisis

Proses pengadukan dalam industri pengolahan memerlukan biaya. Penelitian ini ingin menguji apakah pengadukan selama hidrolisis (60 menit) berbeda hasilnya terhadap produksi FFA dibandingkan tanpa pengadukan. Produksi FFA selama hidrolisis antara yang dilakukan pengadukan dan tanpa pengadukan tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Produksi asam lemak bebas (FFA) pada pengaruh pengadukan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengadukan dengan stirer selama hidrolisis menghasilkan FFA lebih tinggi yaitu 2,540 $\mu\text{mol FFA/ml/jam}$ dibandingkan tanpa stirer yaitu 2,250 $\mu\text{mol/ml enzim/jam}$.

Hal ini karena dengan pengadukan, peluang interaksi enzim dengan substrat menjadi lebih besar, sehingga kecepatan reaksi lebih tinggi. Dengan demikian, FFA yang dihasilkan juga akan lebih tinggi.

Lama Hidrolisis

Lama hidrolisis optimum lipase dari kentos kelapa diperoleh pada 60 menit dengan produksi asam lemak bebas (FFA) 2,25 $\mu\text{mol/ml enzim kasar}$. Jika hidrolisis dilanjutkan menjadi 180 menit, produksi FFA menurun tajam menjadi 0,819 $\mu\text{mol/ml enzim}$ (Tabel 3).

Tabel 3. Produksi asam lemak bebas (FFA) pada variasi lama hidrolisis

Waktu (menit)	FFA ($\mu\text{mol/ml}$)
30	1,69
60	2,25
90	1,40
120	0,87
150	0,82
180	0,69

Penelitian Pahoja dkk. (2001) menghasilkan fenomena yang sama yaitu hidrolisis hingga lama waktu tertentu (180 menit) akan meningkatkan aktivitas lipase *Caesalpinia bonducella* L. Tetapi jika hidrolisis dilanjutkan maka aktivitas lipase akan terjadi penurunan. Jika aktivitas enzim lipase menurun, maka juga akan menurunkan produk hidrolisisnya.

Penurunan produk hidrolisis yang berupa asam lemak bebas (FFA) ini diduga karena pada jumlah tertentu (konsentrasi tertentu) keberadaan FFA justru menghambat reaksi hidrolisis selanjutnya. Menurut Galliard (1971), aktivitas enzim lipase kentang akan mengalami penurunan aktivitas karena produksi senyawa penghambat aktivitas enzim, atau produk samping dari hasil reaksi atau terjadi inaktivasi enzim dengan semakin lama hidrolisis.

Kemungkinan lain penyebab menurunnya FFA adalah karena FFA sudah mencapai maksimal pada lama hidrolisis 60 menit. Jika hidrolisis dilanjutkan lagi, maka FFA akan diurai lebih lanjut dalam siklus katabolisme lemak menghasilkan suatu heksosa sehingga jumlah FFA akan berkurang.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Substrat (minyak kelapa) konsentrasi 10 % dengan perbandingan enzim:substrat 3:10 (v/v) yang dihidrolisis selama 60 menit menghasilkan asam lemak bebas paling tinggi. Pengadukan dengan magnetic stirrer selama proses hidrolisis, menghasilkan FFA sedikit lebih tinggi dibandingkan tanpa pengadukan.

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut proses produksi asam laurat dari minyak kelapa, serta metode pemisahannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional

Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Beasiswa BPPS.

DAFTAR PUSTAKA

- Bewley, J.D. dan Black, M. (1985). *Seeds Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, New York.
- Galliard, T. (1971). Enzymic deacylation of lipids in plants. The effects of free fatty acids on the hydrolysis of phospholipids by the lipolytic acyl hydrolase of potato tubers. *European Journal of Biochemistry* **21**: 90-98.
- Granner, D.K., Mayes, P.A., Murray, R.K. dan Rodwell, V.W. (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry*, 26th edition, Mc Graw-Hill Companies Inc., New Delhi.
- Harnung, B., Amtmann, E. dan Sauer, G. (1994). Lauric acid inhibits the maturation of vesicular stomatitis virus. *Journal of General Virology* **72**: 353-361.
- Kabara J.J., Swieczkowski, D.M., Conley, A.J. dan Truant, J.P. (1972). Fatty acid derivatives as antimicrobial agent. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy* **2**: 23-28.
- Nicole, M.R., Evert, G.S. dan Martijn, B.K. (2001). Consumption of a solid fat rich in lauric acid result in a more favorable serum lipid profile in healthy men and women the consumption of a solid fat rich in trans-fatty acid. *Journal of Nutrition* **131**: 242-245.
- Oo, K.C. dan Stumpf, P.K. (1983). Some enzymic activities in the germinating oil palm (*Elaeis guineensis*) seedling. *Plant Physiology* **73**: 1028-1032.
- Pahoja, V.M., Dahot, M.U. dan Sethar, M.A. (2001). Characteristic properties of lipase crude extract of *Caesalpinia bonducella* L. seeds. *Journal of Biological Sciences* **1**: 775-778.
- Rashid, K., Shimada, Y., Ezaki, S., Atomi, H. dan Imanaka, T. (2001). Low temperature lipase from psychrotrophic *Pseudomonas* sp. strain KB700A. *Applied and Environmental Microbiology* **67**: 4064-4069.
- Sana, N.K., Hossin, I., Haque, E.M. dan Shaha, R.K. (2004). Identification, purification and characterization of lipase from germination oil seed (*Brassica napus* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* **7**: 246-252.
- Sui, M. dan Chandra, W. (2007). *Aktivitas lipase kasar dalam buah kelapa yang digerminasi (ditunaskan)*. Laporan Penelitian Dosen Muda Dirjen DIKTI Depdiknas Republik Indonesia.
- Sui, M. (2007). Karakterisasi Enzim Lipase Kentos Kelapa. Makalah pada Konferensi Internasional Biologi Molekular Ilmu Hayati, 2007, Universitas Brawijaya, Malang.